

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 706 166

②1 N° d'enregistrement national : **93 07109**

⑤1 Int Cl³ : C 07 D 493/18 , A 61 K 31/35 (C 07 D 493/18 , 311:00 ,
321:00 , 323:00)

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 08.06.93.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : 16.12.94 Bulletin 94/50.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : ASSOCIATION ARCHIMEX
(Association Loi 1901) — FR.

⑦2 Inventeur(s) : Mengal Philippe, Zwegers Jacques et
Monpon Bernard.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : Vidon Patrice Cabinet Patrice Vidon.

⑤4 Procédé d'extraction d'artémisinine.

⑤7 L'invention concerne un procédé d'extraction d'artémi-
sinine à partir d'au moins un végétal renfermant ce compo-
sé, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant
à:

- a) mettre en contact ledit végétal en présence d'un fluide
d'extraction sous pression;
- b) séparer ledit fluide d'extraction contenant au moins
une partie de l'artémisinine dudit végétal;
- c) séparer l'extrait contenant l'artémisinine dudit fluide
d'extraction en modifiant les conditions de température
et/ou de pression dudit fluide, de façon à abaisser son pou-
voir solvant et à le vaporiser;
- d) récupérer l'extrait contenant l'artémisinine.

Le procédé selon l'invention permet d'obtenir de l'artémi-
sinine, plus pure que celle obtenue grâce aux procédés
classiques d'extraction par solvant et dans un temps plus
court.

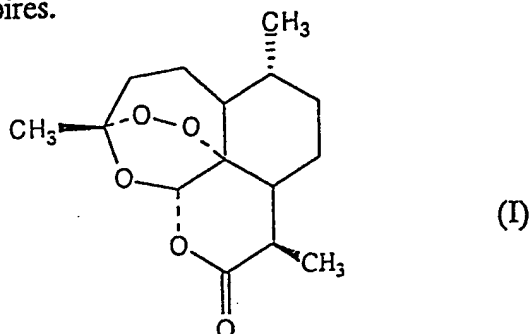
FR 2 706 166 - A1



Procédé d'extraction d'artémisinine.

L'invention concerne le domaine de la chimie extractive à partir de matériaux biologiques et plus précisément l'extraction d'artémisinine à partir de végétaux contenant un tel composé.

L'artémisinine (I) est une lactone sesquiterpénique présentant des propriétés antipaludéennes notoires.



Dans le cadre de son utilisation contre le paludisme, il est d'ailleurs utilisé pour traiter les cas résistants aux autres médicaments classiquement employés pour traiter cette affection.

Ce composé, qui a été isolé pour la première fois en 1972 à partir d'une plante poussant en Chine : *Artemisia annua* L. (voir China Cooperative Research Group "*Qinghaosu and its derivatives as antimalarials*", J. Trad. Chin. Med, 1982, N°2,3) comporte un pont endoperoxyde et a un mode d'action qui n'est pas précisément connu. Il agirait, en fait, directement au niveau du parasite (*Plasmodium*) provoquant la maladie qu'il tuerait en attaquant la membrane cellulaire. Par ailleurs, ce composé s'est révélé à l'emploi faiblement toxique, ce qui a renforcé encore son intérêt et en a fait un antipaludéen de premier plan.

Les plants d'*Artemisia annua* L. contiennent en moyenne entre environ 0,15% et 0,30% en poids d'artémisinine, selon la partie de la plante et le stade de floraison de celle-ci (voir Qinghaosu Antimalaria Coordinating Research Group - Chin. Med. J., 1979, 92, 811).

Plusieurs procédés d'extraction de l'artémisinine ont déjà été décrits et font tous intervenir des solvants organiques tels que le chloroforme, le toluène, l'hexane (voir H.N. Elsohly, Journal of Natural Products, 1990, 53, n°6, pp. 1560 à 1564 ; H.J. Woerdenbag, Phytochemical Analysis, 1991, 2, pp. 215-219 ; J.P. Rey, Journal of Chromatography, 1992, 605, pp. 124-128 ; D.L. Klayman, Journal of Natural

Products, 1984, 47, n°4, pp. 715-717). Or, le problème majeur posé par l'extraction de l'artémisinine réside dans sa fragilité aux conditions d'extraction (température, oxydation...) et/ou aux solvants classiquement utilisés, fragilité qui peut conduire à la dégradation partielle de ce composé au cours de son extraction et à sa transformation en composés inefficaces d'un point de vue thérapeutique. De plus la commercialisation de l'artémisinine extraite à l'aide de tels solvants organiques n'est pas toujours possible compte-tenu des réglementations qui imposent des taux de solvants résiduels maxima pouvant être présents dans les médicaments mis sur le marché.

Ce problème a fait naître le besoin d'une méthode d'extraction douce de l'artémisinine, mettant en oeuvre peu ou pas de solvant organique.

La présente invention a pour objectif de fournir un procédé d'extraction de ce composé permettant l'obtention d'extraits plus riches que les extraits obtenus par les méthodes d'extraction classique et ne faisant pas intervenir nécessairement de solvant organique.

Un autre objectif de l'invention est de fournir un tel procédé permettant l'obtention d'extraits contenant de l'artémisinine plus purs que ceux pouvant être obtenus à l'aide des procédés extractifs classiques et donc susceptibles de présenter une activité thérapeutique accrue.

Un autre objectif de la présente invention est de proposer un tel procédé permettant l'extraction d'artémisinine en un temps considérablement plus court que les techniques extractives de l'état de la technique déjà employées pour ce composé.

Ces différents objectifs sont atteints, selon l'invention, grâce à un procédé d'extraction de l'artémisinine à partir d'au moins un végétal renfermant ce composé, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à :

a) mettre en contact ledit végétal en présence d'un fluide d'extraction sous pression ;

b) séparer ledit fluide d'extraction contenant au moins une partie de l'artémisinine dudit végétal ;

c) séparer l'extrait contenant l'artémisinine dudit fluide d'extraction en

modifiant les conditions de température et/ou de pression dudit fluide, de façon à abaisser son pouvoir solvant et à le vaporiser ;

d) récupérer l'extrait contenant l'artémisinine.

5 Selon une variante de mise en oeuvre de l'invention, ledit fluide d'extraction utilisé se présente, au cours de l'étape a), sous forme d'au moins un composé liquide sous pression possédant une pression inférieure ou supérieure à la pression critique dudit composé et une température inférieure à la température critique dudit composé.

10 Selon une autre variante de mise en oeuvre de l'invention, le fluide d'extraction utilisé se présente, au cours de l'étape a), sous forme d'au moins un composé dans des conditions supercritiques de pression et de température.

15 L'invention utilise donc les propriétés des fluides supercritiques ou des liquides sous pression présentant, dans des conditions de température et de pression appropriées, un pouvoir de dissolution accru vis-à-vis de l'artémisinine, tout en limitant considérablement les risques de dégradation de ce composé, qui, comme il a déjà été mentionné ci-dessus, est sensible à l'action des solvants organiques. L'artémisinine obtenue grâce au procédé selon l'invention, est conséquemment plus pure puisqu'elle ne contient quasiment pas de produits de dégradation résultant de l'agression par un solvant. Par ailleurs, un tel procédé permet d'obtenir des extraits
20 plus concentrés en artémisinine que les extraits obtenus par les méthodes classiques d'extraction telles que l'extraction soxhlet. Enfin, alors que de telles méthodes classiques nécessitent des temps d'extraction très longs (de l'ordre de 48h), l'extraction jusqu'à épuisement peut être menée, grâce au procédé selon l'invention, en un temps notablement plus court (de l'ordre de 1H30).

25 Avantageusement ledit fluide d'extraction est du CO₂, utilisé dans l'étape a) soit sous forme de fluide supercritique, soit sous forme de liquide sous pression. Ce produit présente en effet les avantages d'être peu onéreux, d'être facilement disponible et d'être exempt de tout effet toxique.

30 Bien que le procédé selon l'invention puisse tout à fait être mis en oeuvre en l'absence de tout solvant, ledit fluide d'extraction comprend, selon une variante

de mise en oeuvre du procédé selon l'invention, au moins un co-solvant. Préférentiellement, ce co-solvant est compris dans ledit fluide d'extraction à raison d'au plus 20 % en poids. Une telle faible proportion pondérale de co-solvant, conduit à un extrait ne risquant pas de présenter des quantités trop importantes et gênantes de solvant résiduel.

Egalement préférentiellement, ledit co-solvant est choisi dans le groupe constitué par l'eau et les solvants organiques.

Selon un mode de mise en oeuvre de l'invention, ledit co-solvant est constitué d'éthanol ou d'eau ou d'un mélange de ces deux composés.

Selon un aspect préférentiel de l'invention, ledit fluide d'extraction est constitué par du gaz carbonique possédant au cours de l'étape a) une température comprise entre 10°C et 100°C et une pression comprise entre 60 et 500 bars.

Lorsque le procédé selon l'invention est mis en oeuvre en présence d'un co-solvant, le gaz carbonique utilisé peut présenter, au cours de l'étape a), une température comprise entre 30°C et 60°C et une pression comprise entre 150 et 300 bars.

L'étape c) consistant à séparer l'extrait contenant l'artémisinine dudit fluide d'extraction peut être menée à bien de différentes façons. Selon une première variante, cette étape c) est effectuée en abaissant la pression dudit fluide d'extraction sans modifier sa température.

Selon une autre variante, cette étape c) est effectuée en piégeant ledit extrait sur un support liquide ou solide dans au moins un séparateur ou avantageusement dans au moins deux séparateurs montés en série dont les températures ne sont pas nécessairement identiques. De tels séparateurs peuvent, également avantageusement, être constitués par des cyclones.

Préférentiellement, ledit fluide d'extraction est recyclé à l'issue de l'étape c) consistant à séparer l'extrait contenant l'artémisinine et ledit fluide d'extraction. Ce recyclage peut être effectué, à l'issue de l'étape c), en modifiant de nouveau les conditions de pression et/ou de température du fluide d'extraction, afin de le ramener sous forme de fluide sous pression pouvant être utilisé pour l'étape a). Par

exemple, le fluide peut être comprimé à l'issue de l'étape c) et ensuite refroidi.

Selon une autre variante, ce fluide peut-être refroidi pour être condensé puis pompé et réchauffé pour l'amener aux conditions de pression et de température le rendant utilisable au cours de l'étape a).

5 Selon une variante particulièrement intéressante, le végétal utilisé est constitué par *Artemisia annua* L. Son extraction à partir de ce végétal présente un grand intérêt, puisque celui-ci en renferme des quantités relativement importantes (0,15% à 0,30% en poids).

10 L'invention concerne également l'artémisinine obtenue grâce au procédé selon l'invention. Ce composé présente en effet la particularité d'être beaucoup plus pur que l'artémisinine obtenue grâce aux procédés de l'état de la technique.

15 Enfin, l'invention concerne également les compositions thérapeutiques comprenant, en tant que principe actif, de l'artémisinine obtenue selon un tel procédé, compositions qui sont susceptibles de montrer une plus grande efficacité, compte-tenu de la pureté du composé obtenu grâce à la mise en oeuvre du procédé selon l'invention.

 L'invention sera plus facilement comprise grâce à l'exemple de réalisation du procédé qui va suivre en référence aux dessins dans lesquels :

20 - la figure 1 représente un organigramme montrant les différentes étapes du procédé d'extraction ;

 - la figure 2 représente une installation pour la mise en oeuvre du procédé selon l'invention.

 En référence à la figure 1, le procédé d'extraction de l'artémisinine comprend quatre étapes principales a, b, c, d et une étape facultative e.

25 Lors de la première étape a, la plante dont on veut extraire l'artémisinine est mise, préférentiellement sous forme sèche et broyée, en contact avec un fluide d'extraction. Ce fluide peut être constitué par un liquide sous pression ou par un fluide supercritique et avantageusement par du CO₂ supercritique. Cette mise en contact permet le passage progressif de l'extrait de la plante contenant l'artémisinine dans le fluide d'extraction. Après un temps T, prédéterminé notamment en

30

fonction de la nature du fluide d'extraction et de celle de la plante utilisée, le fluide d'extraction est séparé de la plante lors d'une étape b. Cette étape peut être par exemple menée à bien en évacuant le fluide d'extraction de l'extracteur dans lequel a été menée l'étape a de mise en contact de la plante avec ce fluide. A l'issue de cette deuxième étape b, la pression et la température du fluide d'extraction sont modifiées de façon à abaisser fortement le pouvoir solvant du fluide d'extraction à l'égard de l'artémisinine, ce fluide étant alors vaporisé. Il est ensuite aisé de récupérer l'extrait, lors d'une étape subséquente d, sous forme liquide, solide ou pâteuse.

D'une façon facultative, le fluide d'extraction peut être recyclé en modifiant de nouveau ses conditions de pression et de température au cours d'une étape e, de façon à ce qu'il présente des caractéristiques le rendant utilisable dans l'étape a.

Le procédé selon l'invention a été utilisé pour extraire de l'artémisinine à partir de fleurs, de feuilles, de tiges et de racines d'*Artemisia annua* L grâce à l'installation représentée schématiquement à la figure 2.

Parallèlement, l'extraction de ce composé a été menée, à des fins de comparaison, par un procédé d'extraction classique par soxhlet en présence d'hexane.

1) Extraction par CO₂ supercritique

L'installation pour la mise en oeuvre du procédé comprend un extracteur 1 sur lequel est branchée une canalisation 2 d'amenée de CO₂ à un débit de 12,8 kg/h. Des moyens 3 de modification de la pression et de la température du CO₂ alimenté, permettent de conférer à celui-ci une pression de 280 bars et une température de 50°C le rendant supercritique. Des moyens 4, 10 et 11 situés à la sortie de l'extracteur 1 et entre les séparateurs 5 et 6, et 6 et 7 permettent de réduire la pression du fluide d'extraction contenant l'extrait d'artémisinine du résidu végétal, une fois l'opération d'extraction effectuée. Ce fluide d'extraction est amené au niveau de trois séparateurs 5, 6, 7 au niveau desquels il subit donc une modification des conditions de pression et de température permettant la diminution

de son pouvoir solvant à l'égard de l'artémisinine.

Les séparateurs 5, 6, 7 sont constitués par des cyclones. Le moyen 4 permet d'amener le fluide d'extraction à une température de 25 degrés et à une pression de 80 bars dans le premier séparateur 5. Les moyens 10 et 11 amènent le fluide à une température de 50 degrés et à une pression de 50 bars dans les deuxièmes et troisièmes séparateurs 5 et 6.

L'installation comprend par ailleurs des moyens 8 installés à la sortie du dernier séparateur 7 permettant de modifier les conditions de pression et de température du fluide d'extraction débarrassé de l'artémisinine extraite de façon à pouvoir le recycler vers un réservoir 12 par une canalisation 9 pour être réutilisé par les moyens 3.

L'extraction est menée pendant une durée de 90 minutes.

Pour une quantité de fluides d'extraction totale de 93,6 kilos de CO₂ par kg de charge sèche, on obtient un rendement en extrait de 4,33 % en poids. L'artémisinine présente dans l'extrait obtenu est dosée par chromatographie en phase aqueuse et révèle la présence de 3,72 % en poids d'artémisinine dans l'extrait.

Extraction par soxhlet

L'extraction a été menée à partir de 80g de matière première (Artémisia annua L.) en présence de 800ml d'hexane maintenus à reflux pendant 48 heures.

Après évaporation de l'hexane 6,28g d'extrait ont été récupérés (soit pour un kilo de plantes séchées 8,87%). Toutefois, la concentration de l'extrait en artémisinine dosée par chromatographie en phase gazeuse a révélé que celui-ci ne contenait que 1,86% en poids de ce composé.

Les résultats obtenus lors de l'extraction traditionnelle par l'hexane puis lors de l'extraction par CO₂ supercritique selon l'invention sont condensés dans le tableau 1

	Poids de l'extrait	artémisinine	
		Q.extraites	Concentration
Extraction traditionnelle par l'hexane	88,7 g	1,65 g	1,86 %
Extraction par CO ₂ supercritique	43,3 g	1,61 g	3,72 %

Tableau 1

On peut constater que le procédé selon l'invention permet d'obtenir en un temps considérablement plus court (90 minutes au lieu de 48 heures) des quantités similaires d'artémisinine soit la totalité de l'artémisinine présente (1,65g dans le cas de l'extraction traditionnelle et 1,61g dans le cas de l'extraction par CO₂ supercritique). De plus, les extraits obtenus sont deux fois plus riches en artémisinine dans le cas de l'extraction par CO₂ supercritique, ce qui confirme l'intérêt du procédé selon l'invention qui permet d'obtenir cette substance anti-paludéenne dans des conditions meilleures que celles de l'état de la technique.

L'installation comprend par ailleurs des moyens 8 permettant de modifier les conditions de pression et de température du fluide d'extraction débarrassé de l'artémisinine extraite de façon à pouvoir les recycler vers l'extracteur 1 par une canalisation 9.

Le présent exemple de réalisation de l'invention n'a pas pour objet de réduire la portée de celle-ci. Il pourra être notamment mis en oeuvre d'autres fluides d'extraction que le CO₂ supercritique.

REVENDEICATIONS

1. Procédé d'extraction d'artémisinine à partir d'au moins un végétal renfermant ce composé, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à :

5 a) mettre en contact ledit végétal en présence d'un fluide d'extraction sous pression ;

b) séparer ledit fluide d'extraction contenant au moins une partie de l'artémisinine dudit végétal ;

10 c) séparer l'extrait contenant l'artémisinine dudit fluide d'extraction en modifiant les conditions de température et/ou de pression dudit fluide, de façon à abaisser son pouvoir solvant et à le vaporiser ;

d) récupérer l'extrait contenant l'artémisinine.

2. Procédé d'extraction selon la revendication 1 caractérisé en ce que ledit fluide d'extraction utilisé se présente, au cours de l'étape a), sous forme d'au moins
15 un composé liquide sous pression possédant une pression inférieure ou supérieure à la pression critique dudit composé et une température inférieure à la température critique dudit composé.

3. Procédé d'extraction selon la revendication 1 caractérisé en ce que le fluide d'extraction utilisé se présente, au cours de l'étape a), sous forme d'au moins
20 un composé dans des conditions supercritiques de pression et de température.

4. Procédé d'extraction selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que ledit fluide d'extraction est du CO₂.

5. Procédé d'extraction selon l'une des revendications 1 à 4 caractérisé en ce que ledit fluide d'extraction comprend au moins un co-solvant.

25 6. Procédé d'extraction selon la revendication 5 caractérisé en ce que ledit co-solvant est compris dans ledit fluide d'extraction à raison d'au plus 20 % en poids.

7. Procédé d'extraction selon les revendications 5 ou 6 caractérisé en ce que ledit co-solvant est choisi dans le groupe constitué par l'eau et les solvants
30 organiques.

8. Procédé d'extraction selon la revendication 7 caractérisé en ce que ledit co-solvant est constitué d'éthanol ou d'eau ou d'un mélange de ces deux composés.

5 10. Procédé d'extraction selon la revendication 4 caractérisé en ce que ledit fluide d'extraction est constitué par du gaz carbonique possédant au cours de l'étape a) une température comprise entre 10°C et 100°C et une pression comprise entre 60 et 500 bars.

10 11. Procédé d'extraction selon l'une des revendications 5 à 8 caractérisé en ce que ledit fluide d'extraction est constitué par du gaz carbonique possédant au cours de l'étape a) une température comprise entre 30°C et 80°C et une pression comprise entre 150 et 300 bars.

12. Procédé d'extraction selon l'une des revendication 1 à 11 caractérisé en ce que ladite étape c) consistant à séparer l'extrait contenant l'artémisinine dudit fluide d'extraction est effectuée en abaissant la pression dudit fluide d'extraction sans modifier sa température.

15 13. Procédé d'extraction selon l'une des revendications 1 à 11 caractérisé en ce que ladite étape c) consistant à séparer l'extrait contenant l'artémisinine dudit fluide d'extraction est effectuée en piégeant ledit extrait sur un support liquide ou solide dans au moins un séparateur.

20 14. Procédé d'extraction selon la revendication 13 caractérisé en ce que ladite étape c) consistant à séparer l'extrait contenant l'artémisinine dudit fluide d'extraction est effectuée grâce à un ou plusieurs séparateurs montés en série pouvant présenter des températures différentes.

25 15. Procédé d'extraction selon l'une des revendications 13 ou 14 caractérisé en ce que ledit séparateur ou lesdits séparateurs sont constitués par un ou plusieurs cyclones.

16. Procédé d'extraction selon l'une des revendications 1 à 15 caractérisé en ce que ledit fluide d'extraction est recyclé à l'issue de l'étape c) consistant à séparer l'extrait contenant l'artémisinine et ledit fluide d'extraction.

30 17. Procédé d'extraction selon l'une des revendications 1 à 16 caractérisé en ce que ledit végétal est constitué par *Artemisia annua* L.

18. Artémisinine caractérisée en ce qu'elle est obtenue par le procédé selon l'une des revendications 1 à 17.

19. Composition thérapeutique comprenant de l'artémisinine obtenue en mettant en oeuvre le procédé selon l'une des revendications 1 à 17.

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 487280
FR 9307109

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
A	US-A-4 952 603 (F. S. ELFERALY ET AL) * revendications 1-12 * ----	1-19
A	WO-A-93 00424 (WORCESTER POLYTECHNIC INSTITUTE) * revendications 1-12 * ----	1-19
A	JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY vol. 355 , 1986 , AMSTERDAM NL pages 448 - 450 N. ACTON ET AL 'Isolation of artemisinin (qinghaosu) and its separation from artemisitenone using the Ito mulzylinder coil separator-extractor and isolation of artemisinin B' * le document en entier * ----	1-19
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 115, no. 2, 15 Juillet 1991, Columbus, Ohio, US; abstract no. 15580f, ZHENXING WEI 'Isolation of artemisinin and artemisitenone from sagebrush' page 449 ; * abrégé * & CN-A-1 047 503 (INST. OF TRAD. CHIN. MED., SHANDONG PROV.) ----	1-19
D,A	JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY vol. 605 , 1992 , AMSTERDAM NL pages 124 - 128 JEAN-PIERRE REY ET AL 'Extraction and high-performance liquid chromatographic methods for the gamma-lactones parthenolide (Chrysanthemum parthenium Bernh.), marrubiin (Marrubium vulgare L.) and artemisinin (Artemisia annua L.)' * le document en entier * -----	1-19
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
24 Février 1994		Voyiazoglou, D
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ----- & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

Description:-

Process of extraction of artémisinine. The invention relates to the field of extractive chemistry starting from biological materials and more precisely the extraction of artémisinine starting from plants containing such a compound. Artémisinine (I) is a sesquiterpenic lactone presenting of the properties antipaludéennes notorious. CH₃ OQ (I) (I) CH₃ O Within the framework of its use against paludism, it is used besides to treat the cases resistant to the other drugs classically employed to treat this affection. This compound, which was insulated for the first time in 1972 starting from a plant pushing in China: *Artemisia annua* L (see China Cooperative Research Group " Qi7zghaosu and its dènvatives have antimalanals ", J Trad. Chin. Med, 1982, N 2,3) comprise a bridge endoperoxyde and have a mode of action which is not precisely known. It would act, in fact, directly on the level of the parasite (Plasmodium) causing the disease which it would kill by attacking the cellular membrane. In addition, this compound appeared with employment slightly toxic, which still reinforced its interest and made a antipaludéen of foreground of it. The seedlings of *Artemisia annua* L contain on average between approximately 0,15% and 0,30% in weight of artémisinine, according to the part of the plant and the stage of flowering of this one (see Qinghaosu Antimalaria Coordinating Research Group - Chin. Med. J, 1979, 92, 811). Several processes of extraction of the artémisinine were already described and utilize all of organic solvents such as chloroform, toluene, the hexane (see H.N. Elsohly, Journal of Natural Products, 1990, 53, n°6, pp. 1560 to 1564; H.J. Woerdenbag, Phytochemical Analysis, 1991, 2, pp. 215-219; J.P. Rey, Newspaper of Chromatography, 1992, 605, pp. 124128; D.L. Klayman, Newspaper of Natural Products, 1984, 47, n°4, pp. 715-717). However, the major problem posed by the extraction of the artémisinine lies in its brittleness at the conditions of extraction (temperature, oxidation...) and/or at solvents classically used, brittleness which can lead to degradation partial of this compound during its extraction and to its transformation into ineffective compounds from a therapeutic point of view. Moreover marketing of the artémisinine extracted using such organic solvents is not always possible taking into account the regulations which impose maximum residual solvent rates which can be present in the drugs put on the market. This problem gave birth to the need for a method of soft extraction of the artémisinine, implementing little or not organic solvent. The present invention aims to provide a process of extraction of this compound allowing obtaining extracts richer than the extracts obtained by the methods of traditional extraction and not utilizing necessarily of organic solvent. Another objective of the invention is to provide such a process allowing obtaining extracts containing of the artémisinine purer than those being able to be obtained using the extractive processes traditional and thus likely to present an increased therapeutic activity. Another objective of this invention is to propose such a process allowing the extraction of artémisinine in a time considerably shorter than the extractive techniques of the state of the art already employed for this compound. These various objectives are achieved, according to the invention, thanks to a process of extraction of the artémisinine starting from at least a plant containing this compound, characterized in that it includes/understands the stages consisting with: a) to put in vegetable the aforementioned contact in the presence of a fluid of extraction under pressure; b) to separate the aforementioned fluid of extraction containing at least part of the artémisinine of the aforesaid plant; c) to separate the extract containing the artémisinine of the aforesaid fluid from extraction by modifying the conditions of temperature and/or fluid pressure of the aforesaid, in order to lower its capacity solvent and to vaporize it; d) récupé

According to an alternative of implementation of the invention, the aforementioned fluid of extraction used presents itself, during the stage a), in the form of at least a liquid compound under pressure having a pressure lower or higher than the pressure criticizes of the aforesaid compound and a temperature lower than the temperature criticizes of the aforesaid compound. According to another alternative of implementation of the invention, the fluid of extraction used is presented, during the stage a), in the form of at least a compound under supercritical conditions of pressure and temperature. **time-out** the invention use thus the property of fluid supercritical or of liquid under pressure present, under some condition of temperature and of pressure adapt, a capacity of dissolution increase with respect to the

artémisinine, very in limit considerably the risk of degradation of this compound, which, like it have already be mention above, be sensitive with action of solvent organic. The artémisinine obtained thanks to the process according to the invention, is consequently purer since it almost does not contain breakdown products resulting from the aggression by a solvent. In addition, such a process makes it possible to obtain extracts more concentrated in artémisinine than the extracts obtained by the traditional methods of extraction such as the extraction soxhlet. Lastly, whereas such traditional methods require very long times of extraction (about 48h), the extraction until exhaustion can be carried out, thanks to the process according to the invention, in a time notably shorter (about 1h30). Advantageously the aforementioned fluid of extraction is CO₂, used in the stage a) either in the form of fluid supercritical, or in the form of liquid under pressure.

This product indeed has the advantages of being not very expensive, to be easily available and to be free from any toxic effect. Although the process according to the invention can completely be implemented in the absence of any solvent, the aforementioned fluid of extraction includes/understands, according to an alternative of implementation of the process according to the invention, at least a Co-solvent. Preferentially, this Co-solvent is included/understood in the aforementioned fluid of extraction at a rate of to more 20 % in weight. Such a small ponderal proportion of Co-solvent, conduit to an extract not being likely to present too significant and awkward quantities of residual solvent. Also preferentially, the aforementioned Co-solvent is selected in the group consisted water and solvents organic. According to a mode of implementation of the invention, the aforementioned Co-solvent consists of ethanol or water or a mixture of these two made up. According to a preferential aspect of the invention, the aforementioned fluid of extraction is consisted carbon dioxide having during the stage a) a temperature ranging between 10 °C and 100°C and a pressure ranging between 60 and 500 bars. When the process according to the invention is implemented in the presence of a Co-solvent, carbon dioxide used can present, during the stage a), a temperature ranging between 30°C and 60 °C and a pressure ranging between 150 and 300 bars. The stage c) consisting in separating the extract containing the artémisinine of the aforesaid fluid from extraction can be concluded in various ways. According to a first alternative, this stage c) is carried out by lowering the fluid pressure of the aforesaid of extraction without modifying its temperature. According to another alternative, this stage c) is carried out by trapping the aforementioned extract on a liquid or solid support in at least a separator or advantageously in at least two separators assembled in series whose temperatures are not necessarily identical. Such separators can, also advantageously, being consisted cyclones.

Preferentially, the aforementioned fluid of extraction is recycled at the end of the stage c) consisting in separating the extract containing the artémisinine and the aforementioned fluid from extraction. This recycling can be carried out, at the end of the stage c), by again modifying the conditions of pressure and/or of temperature of the fluid of extraction, in order to bring back it in the form of fluid under pressure which can be used for the stage a). For example, the fluid can be compressed at the end of the stage c) and then cooled. According to another alternative, this fluid perhaps cooled to be condensed then pumped and heated to bring it to the conditions of pressure and temperature making it usable during the stage a). According to a particularly interesting alternative, the plant used is consisted *Artemisia annua* L. Its extraction starting from this plant is of great interest, since this one contains relatively significant quantities of them (0,15% to 0,30% in weight). The invention also relates to the artémisinine obtained thanks to the process according to the invention. This compound indeed has the effect of being much purer than the artémisinine obtained thanks to the processes of the state of the art. Lastly, the invention also relates to the therapeutic compositions including/understanding, as an active ingredient, of the artémisinine obtained according to such a process, compositions which are likely to show a greater effectiveness, taking into account the purity of the compound obtained thanks to the implementation of the process according to the invention. The invention will be more easily included/understood thanks to the example of realization of the process which will follow in reference to the drawings in which: - figure

1 represents a flow chart showing the various stages of the process of extraction - figure 2 represents an installation for the implementation of the process according to the invention.

In reference on figure 1, the process of extraction of the artémisinine includes/understands four principal stages has, B, C, D and an optional stage E. At the time of the first stage has, the plant which one wants to extract the artémisinine is put, preferentially in dry and crushed form, in contact with a fluid of extraction. This fluid can be consisted by a liquid under pressure or a supercritical fluid and advantageously by of supercritical CO₂. This setting in contact allows the progressive passage of the extract of the plant containing the arté~isi- nine in the fluid of extraction. After a time T, in particular predetermined according to the nature of the fluid of extraction and that of the plant used, the fluid of extraction is separated from the plant at the time of a stage B This stage can for example be concluded by evacuating the fluid of extraction of the extractor in which was carried out the stage has of setting in contact of the plant with this fluid. With the exit of this second stage B, the pressure and the temperature of the fluid of extraction are modified of pennon to strongly lower the capacity solvent of the fluid of extraction with regard to the artémisinine, this fluid being then vaporized. Il is then easy to recover the extract, at the time of a subsequent stage D, in liquid form, solid or pasty. In an optional way, the fluid of extraction can be recycled by again modifying its conditions of pressure and of temperature during a stage E, so that it shows characteristics making it usable in the stage has. The process according to the invention was used to extract from the artémisinine starting from flowers, sheets, stems and roots of *Artemisia annua* L. thanks to the installation represented schematically on figure 2. In parallel, the extraction of this compound was carried out, at ends of comparison, by a process of traditional extraction by soxhlet in the presence of hexane.

1) Extraction by supercritical CO₂ the installation for the implementation of the process includes/understands an extractor 1 on which is connected a line 2 of CO₂ supply to a flow of 12,8 kg/h. Means 3 of modification of the pressure and temperature of fed CO₂, make it possible to confer on this one a pressure of 280 bars and a temperature of 50°C making it supercritical. Means 4, 10 and 11 located at the output of extractor 1 and between separators 5 and 6, and 6 and 7 make it possible to reduce the pressure of the fluid of extraction containing the extract of artémisinine vegetable residue, once the operation of extraction carried out. This fluid of extraction is brought to the level of three separators 5, 6, 7 on the level of which it thus undergoes a modification of the conditions of pressure and temperature allowing the reduction in its capacity solvent with regard to the artémisinine. Separators 5, 6, 7 are consisted cyclones. Means 4 makes it possible to bring the fluid of extraction to a temperature of 25 degrees and a pressure of 80 bars in first separator 5. Means 10 and 11 bring the fluid to a temperature of 50 degrees and a pressure of 50 bars in the second and third separators 5 and 6. The installation in addition includes/understands means 8 installed on the outlet side of last separator 7 making it possible to modify the conditions of pressure and temperature of the fluid of extraction removed from the artémisinine extracted in order to be able to recycle it towards a tank 12 by a line 9 to be re-used by means 3. The extraction is carried out throughout one 90 minute. For a quantity of fluids of total extraction of 93,6 kilos CO₂ per kg of dry load, one obtains an output in extract of 4,33 % in weight. The artémisinine present in the extract obtained is proportioned by chromatography in aqueous phase and reveals the presence of 3,72 % in weight of artémisinine in the extract. Extraction by soxhlet the extraction was carried out starting from raw material 80g (*Artémisia annua* L.) in the presence of 800ml of hexane maintained with backward flow during 48 hours. After evaporation of the hexane 6,28g of extract were recovered (either for one kilo of dried plants 8,87%). However, the concentration of the extract in artémisinine proportioned by gas chromatography revealed that this one contained only 1,86% in weight of this compound. The results obtained during the traditional extraction by hexane then during the extraction by supercritical CO₂ according to the invention are condensed in table 1

Weight of artémisinine I' extracts	601 G	Q.extraites	Concentration traditional	Extraction by hexane	88,7 G	1,65 G	1,86 %
Extraction by supercritical CO ₂	43,3 G	t61 G	3,72 %	Table 1	One can note that the process according to the invention makes it possible to obtain in a time considerably shorter (90 minutes instead of 48		

hours) of the similar quantities of artémisinine is the totality of the artémisinine present (1,65g in the case of the traditional extraction and 1,61g in the case of the extraction by CO₂ supercritic that). Moreover, the extracts obtained are twice richer in artémisinine in the case of the extraction by supercritical CO₂, which confirms the interest of the process according to the invention which makes it possible to obtain this anti-paludic substance under conditions better than celles of the state of the art. The installation includes/understands means 8 in addition making it possible to modify the conditions of pressure and temperature of the fluid of extraction removed from the artémisinine extracted in order to be able to recycle them towards extractor 1 by a line 9. This example of realization of the invention does not have as an aim to reduce the range of this one. It could be in particular implemented of other fluids of extraction that supercritical CO₂.

Claims:-

1. Proceeded of extraction of artémisinine starting from at least a plant containing this compound, characterized in that it includes/understands the stages consisting with: a) to put in vegetable the aforementioned contact in the presence of a fluid of extraction under pressure b) to separate the aforementioned fluid of extraction containing at least part of the artémisinine of the aforesaid plant; c) to separate the extract containing the artémisinine of the aforesaid fluid from extraction by modifying the conditions of temperature and/or fluid pressure of the aforesaid, in order to lower its capacity solvent and to vaporize it; d) to recover the extract containing the artémisinine.
2. Proceeded of extraction according to claim 1 characterized in that the aforementioned fluid of extraction used presents, during the stage a), in the form of at least a liquid compound under pressure having a pressure lower or higher than the pressure criticizes of the aforesaid compound and a temperature lower than the temperature criticizes of the aforesaid compound.
3. Proceeded of extraction according to claim 1 characterized in that the fluid of extraction used presents, during the stage a), in the form of at least a compound under supercritical conditions of pressure and temperature.
4. Proceeded of extraction according to one of claims 1 to 3 characterized in that the aforementioned fluid of extraction is CO₂.
5. Proceeded of extraction according to one of claims 1 to 4 characterized in that the aforementioned fluid of extraction includes/understands at least a Co-solvent.
6. Proceeded of extraction according to claim 5 characterized in that the aforementioned Co-solvent is included/understood in the aforementioned fluid of extraction at a rate of to more 20 % in weight.
7. Proceeded of extraction according to the claims 5 or 6 characterized in that the aforementioned Co-solvent is selected in the group consisted water and solvents organic.
8. Proceeded of extraction according to claim 7 characterized in that the aforementioned Co-solvent consists of methanol or water or a mixture of these two made up.
9. missing

10. Proceeded of extraction according to claim 4 characterized in that the aforementioned fluid of extraction is consisted carbon dioxide having during the stage a) a temperature ranging between 10 C and 100 C and a pressure ranging between 60 and 500 bars.
11. Proceeded of extraction according to one of claims 5 to 8 characterized in that the aforementioned fluid of extraction is consisted carbon dioxide having during the stage a) a temperature ranging between 30°C and 800°C and a pressure ranging between 150 and 300 bars.
12. Proceeded of extraction according to one of claim 1 to 11 characterized in that the aforementioned stage c) consisting in separating the extract containing the artémisinine of the aforesaid fluid from extraction is carried out by lowering the fluid pressure of the aforesaid of extraction without modifying its temperature.
13. Proceeded of extraction according to one of claims 1 to 11 characterized in that the aforementioned stage c) consisting in separating the extract containing the artémisinine of the aforesaid fluid from extraction is carried out by trapping the aforementioned extract on a liquid or solid support in at least a separator.
14. Proceeded of extraction according to claim 13 characterized in that the aforementioned stage c) consisting in separating the extract containing the artémisinine of the aforesaid fluid from extraction is carried out thanks to one or more separators assembled in series being able to have different temperatures.
15. Proceeded of extraction according to one from the claims 13 or 14 characterized in that the aforementioned separator or the aforementioned separators is consisted one or more cyclones.
16. Proceeded of extraction according to one of claims 1 to 15 characterized in that the aforementioned fluid of extraction is recycled at the end of the stage c) consisting in separating the extract containing the artémisinine and the aforementioned fluid of extraction.
17. Proceeded of extraction according to one of claims 1 to 16 characterized in that the aforementioned plant is consisted *Artemisia annua* L
18. Artémisinine characterized in that it is obtained by the process according to one of claims 1 to 17.
19. Therapeutic composition including/understanding of the artémisinine obtained by implementing the process according to one of claims 1 to 17.